

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
Chefärztin Professor Dr. med. I. Boll

**Die Einwirkung von
1 μ g/ml Hydrocortison auf menschliches
Knochenmark in vitro**

**Inaugural-Dissertation
zur**

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Susanne Wichmann
aus Berlin

1976

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
Chefärztin Professor Dr. med. I. Boll

**Die Einwirkung von
1 μ g/ml Hydrocortison auf menschliches
Knochenmark in vitro**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Susanne Wichmann
aus Berlin

Referent: Prof. Dr.med. I. Boll

Korreferent: Prof. Dr.med. Horst Brücher

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-,
Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 24. Mai 1976

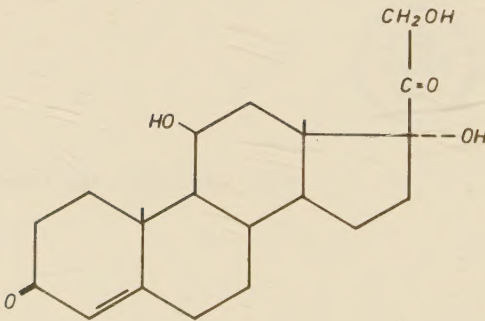
Druck: Zentrale Universitätsdruckerei, V a A 4

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	4
FRAGESTELLUNG	14
METHODE und ARBEITSGANG	15
ERGEBNISSE	22
ZUSAMMENFASSUNG der ERGEBNISSE	59
DISKUSSION	62
ZUSAMMENFASSUNG	66
LITERATURVERZEICHNIS	67

E I N L E I T U N G

Das Nebennierenrindenhormon Hydrocortison gehört zu den C_{21} -Steroiden und leitet sich chemisch-systematisch vom Pregnan ab. Die Biosynthese geht vom Cholesterin aus. Als wichtigste Schlüssel-substanz und Vorstufe der Corticoide muß das Progesteron angesehen werden, das durch Hydroxy-lierung mit Hilfe spezifischer Steroidhydroxylasen, von denen man die 17-Hydroxylase, die 21- und die 11-Hydroxylase kennt, zum Cortisol - wie Hydrocortison ebenfalls genannt wird - umgewandelt wird.



Cortisol = Hydrocortison

Die Nebennierenrindenhormone gehören zu den lebensnotwendigen Stoffen. ADDISON (1) beschrieb 1855 das durch Nebennierenrindenzerstörung hervorgerufene Krankheitsbild, das nach ihm als Addison'sche Krankheit benannt ist. Mit Hilfe eines wäßrigen Nebennierenextraktes, den sie in großen Mengen verabreichten, gelang es 1930 SWINGLE und PFIFFNER (48/49), die nach Adrenalectomie bei Tieren aufgetretenen Ausfallerscheinungen zu kompensieren und die Tiere am Leben zu erhalten. In den folgenden Jahren gelang es dann zunehmend, mit Hilfe von Fettlösungsmitteln (Azeton) Extrakte mit stärkerer Wirkung zu gewinnen.

Die eigentliche Cortisontherapie wurde 1948 durch Philip HENCH (28), der die entzündungshemmende Wirkung des Cortisons erkannt hatte, eingeleitet, indem er einer unter schwerem Gelenkrheumatismus leidenden Patientin Cortison injizierte, wodurch die Patientin weitgehend von den Symptomen ihrer Krankheit befreit wurde.

1929 bereits machte HENCH (28) die Beobachtung, daß es zur Besserung einer chronischen Polyarthritidis als Folge des erhöhten Gestagenspiegels (Progesteron) in der Schwangerschaft sowie bei Hinzukommen einer Gelbsucht kam. Dem Biochemiker KENDALL, dem bereits die Synthese des Cortisons gelungen war, berichtete 1941 HENCH seine Beobachtungen. Durch die weltpolitischen Umstände verzögert, gelang es ihnen erst 1948 eine

injizierbare Substanz zu synthetisieren. Im Frühjahr 1949 erfolgte dann die erste Veröffentlichung in den "Proceedings of the Mayo-Clinic" (28). HENCH und KENDALL erhielten 1950 zusammen mit dem an der Strukturauklärung beteiligten REICHSTEIN den Nobelpreis.

Im Überschwang der Begeisterung wurde Cortison in der nächsten Zeit als Allheilmittel angewandt, bis sich auch die Schattenseiten der Cortisontherapie zeigten.

Durch die Einführung chemischer Substituenten in das Sterangerüst konnte die Wirkung der Hormone günstig beeinflußt und um ein Vielfaches gesteigert werden.

Drei in ihrer Wirkung unterschiedliche Hormongruppen werden von der Nebennierenrinde sezerniert: Die Mineralocorticoide, die Glucocorticoide und die Androgene. Hydrocortison wird den Glucocorticoiden zugeordnet und hat vorwiegend Stoffwechselwirkung auf den Kohlehydrat-Haushalt.

Der Wirkungsmechanismus der Corticosteroide konnte bis jetzt noch nicht eindeutig geklärt werden. Sicher ist, daß er sich auf molekularer Ebene abspielt. Man nimmt an, daß die Wirkung der Glucocorticoide auf einer Stabilisierung der Zell- und Organellenmembranen und dem Schutz der Lysosomen vor Zerstörung beruht. (32)

Bei entsprechend unphysiologisch hohen Dosen bremsen die Corticosteroide alle mesenchymalen Reaktionen (Pharmakodynamischer Effekt) wie Entzündung, Proliferation und Exsudation. Ihr unspezifisch antitoxischer und immunsuppressiver Effekt sind bekannt.

Die Wirkung der Corticosteroide wurde in vivo und in vitro unter den unterschiedlichsten Voraussetzungen und mit den divergierensten Ergebnissen untersucht.

Eine stimulierende Wirkung der Glucocorticoide auf die Proliferation vermuten aufgrund ihrer Ergebnisse:

ARPELS und Mitarb. (2), die eine ausgiebige Verlängerung des Zellwachstums ohne Degenerationserscheinungen nach Gabe von 2,5 bis 10 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison auf menschliche Zellkulturen feststellen konnten. Zu gleichen Ergebnissen, nämlich der Verlängerung der Überlebenszeit um wenigstens 25 %, gelangte MACIERA (35) nach Gabe von 2,5 $\mu\text{g/ml}$ Cortison auf menschliche Embryonalzellen. Bei deutlich höheren Hormonkonzentrationen von 50 $\mu\text{g/ml}$ Cortison kam es jedoch zur Wirkungsänderung, d.h. es konnte keine Stimulierung mehr festgestellt werden. Diese dosisunterschiedliche Wirkungsänderung konnte auch in den Versuchen von GILETTE und BUCHSBAUM (21) nachgewiesen werden, die bei Gabe von maximal 15 $\mu\text{g/ml}$ Desoxycorticosteronglycosid eine Wachstumsstimulierung von Hühnerembryofibroblasten, bei Konzentrationen von 30 $\mu\text{g/ml}$ jedoch eine Reduzierung der Wachstumsrate und

die Zerstörung der Zellkerne beobachteten. Die gesteigerte Proliferation von Fibroblasten und Knochenmarkszellen fanden auch FARNES und BARKER (15) bei ihren in-vitro-Versuchen unter dem Einfluß von 0,5 bis 5,0 $\mu\text{g/ml}$ Prednisolon.

Über einen hemmenden Einfluß der Corticosteroide liegen zahlreiche Arbeiten vor:

WELLINGTON und MOON (56) fanden das Zellwachstum unterschiedlicher Zellkulturen in vitro durch Hydrocortison in hohen Dosen von 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ in Abhängigkeit von der Konzentration und der Expositionsdauer gehemmt. Eine deutlichere Wachstumshemmung der Fibroblastenkulturen stellten HOLDEN und ADAMS (29) unter Hydrocortison als unter Cortisonacetat bei Konzentrationen von 10 bis 50 $\mu\text{g/ml}$ fest. Zu den gleichen Ergebnissen kamen GROSSFELD und RAGAN (24). In ihren Versuchen mit Hühnerembryozellkulturen im hängenden Tropfen bei Konzentrationen von 200 $\mu\text{g/ml}$ hatte Hydrocortison keinen Einfluß auf die Mitosen. Das Ergebnis der in-vitro-Versuche von REISNER und ODOM (43) an Fibroblasten und von HEILMANN (27) an fibroblastenähnlichen Zellen nach Corticosteroidzusatz von 1,0 bis 10 $\mu\text{g/ml}$ war eine Proliferationshemmung. Auch TAI-FOUR (50) beobachtete unter Prednisoloneinfluß bei Konzentrationen von 0,1 bis 1,0 $\mu\text{g/ml}$ an Mäusefibroblasten-Kulturen eine Regenerationshemmung, die mit steigender Konzentration nahezu linear anstieg.

Zur Mitosehemmung kam es auch bei den Versuchen von SEIFERT und HILZ (47) an diversen Zellen aus Rattenorganen mit $0,36 \mu\text{g/ml}$ Hydrocortison. HECKMANN (26) kultivierte maligne Zellen von soliden Tumoren und stellte bei Konzentrationen von $25 \mu\text{g/ml}$ sowie $250 \mu\text{g/ml}$ Corticosteroid eine Proliferationshemmung fest.

Durch die Injektion von $5 \mu\text{g/ml}$ Hydrocortison konnte FRANKFURT (19) den Beginn der DNS-Synthese der Oberflächenepithelzellen der Magenschleimhaut von Mäusen verhindern. Allerdings fand er eine Abhängigkeit der Wirkung des Cortisols von der jeweiligen Phase des Regenerationszyklus und dem Zeitpunkt der Hormongabe. Bei Gaben von 25 bis 50 mg/kg Hydrocortison stellte PETROV (40) bei Mäusen eine Hemmung der Mitosen, die jedoch bei geringeren Konzentrationen ($0,04\text{--}5 \text{ mg/kg}$) nicht mehr zu registrieren war, fest. Gleichzeitig wies er wie andere Autoren auch den lymphotoxischen Effekt des Hydrocortisols nach.

Die Wirkung der Corticosteroide auf das lymphatische System wurde von etlichen Forschern mit besonderem Interesse untersucht. Die Ergebnisse einiger Arbeiten seien hier erwähnt:

BASERGA und MORSIANI (4) beobachteten die Atrophie des lymphatischen Gewebes von Mäusen nach Gabe von $180 \mu\text{g/die}$ Prednisolon. MORRISON und TOEPFER (37) stellten bei der Gabe von $0,05 \text{ mg/g}$ Ratte Corticosteroid neben einer starken allgemeinen Gewichtsabnahme sowie der Verminderung des Thymusgewebes

eine signifikante Abnahme der Knochenmarklymphozyten fest. GABOUREL und ARONOW (20) sowie JAFFE (31) unterstützen mit ihren Versuchsergebnissen bei steigender Dosierung die These, daß das lymphatische Gewebe durch 0,01 bis 1 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison bzw. 12,5 bis 50 mg/kg Cortisonacetat in seiner Regeneration ebenso wie in seinem Wachstum gehemmt wird.

Eine generelle Verminderung der Lymphozyten in den Kulturen fanden THORMEY (52) und ELVES (14) in ihren Versuchen mit 0,1 mg/ml Prednisolon, das sie in vitro auf menschliche Lymphozyten wirken ließen. An Rattenlymphknoten stellte TROWELL (53) in vitro das Absterben von 45 % der Lymphozyten bei der Konzentration von 10 $\mu\text{g/ml}$ Cortison fest. MEISSNER (36) konnte eine Hemmung der DNS-Synthese an lymphoiden Zellen, die er den lymphatischen Geweben vorher mit Prednisolon behandelter Patienten entnahm, feststellen. KUMMER und OCHS (34) fanden eine Verminderung der RNS-Synthese bei lymphatischen Leukämiezellen vom Rind nach Prednisolongabe. Auch in den Versuchen von DARZYNKIEWICZ und PIENKOWSKI (12) an menschlichen, mit Phytohaemagglutinin stimulierten Lymphozyten kam es unter dem Einfluß steigender Konzentrationen von 1,0 bis 10,0 $\mu\text{g/ml}$ Prednisolon zur Verminderung der RNS-Synthese. Nach Gabe von 0,25 $\mu\text{g/ml}$ Fluocortulon zeigte sich auch in den Knochenmarkkulturen von KOCH (33) eine signifikante Abnahme der Knochenmarklymphozyten.

Einige Arbeiten, die sich mit der Wirkung der Corticosteroide auf die Proliferation des Knochenmarkes, also auf die Hämatopoese, beschäftigen, sollen nachfolgend erwähnt werden:

Nach seinen tierexperimentellen Versuchen beschrieb CECCHI (11) bei Gabe von 1,5 mg/die Prednison bzw. Prednisolon sowie 5 mg/die Cortison stimulierende Effekte auf das Knochenmark, die von HANSEN UND SCHÖN (25), YOFFEY (58) und HUDSON (30) anhand ihrer Versuchsergebnisse bestätigt wurden. QUITTNER (41) beobachtete bei seinen Versuchen an Mäusen nach Injektion von 2,5 mg Cortison eine Steigerung der Wachstumsaktivität der Knochenmark- und Blutzellen sowie eine Zunahme aller weißen Vorstufen. VAHLQUIST (54) konnte bei der Behandlung von Kindern, von denen eine Gruppe an ' pure red cell anaemia ', die zweite an akuter Leukämie und die dritte an Asthma bronchiale litt, letztere also als hämatologisch gesund angesehen werden kann, bei Tagesdosen von $< 0,5 \mu\text{g/kg}$ Körpergewicht einen kräftig stimulierenden Effekt des Hydrocortisons auf die Erythropoese feststellen. Bei der höheren Dosis von $1,0 \mu\text{g/kg}$ konnte jedoch keine Steigerung des Effektes erzielt werden.

Bei sehr hohen Konzentrationen von $250 \mu\text{g/ml}$ Prednisolon beobachtete BOLL (8) in vitro eine Proliferationsförderung der Granulopoese im menschlichen Knochenmark. Einen fördernden Einfluß der Corticosteroide auf das menschliche Knochen-

mark konnten bei ihren in-vitro-Versuchen GLÖCKLER (22) mit 0,25 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison, WILDE (57) mit 0,25 $\mu\text{g/ml}$ Dexamethasonsulfat und SCHELLACK (45) mit 0,25 $\mu\text{g/ml}$ Prednisolonacetat nachweisen. KOCH (33) konnte in seinen Versuchen mit 0,25 $\mu\text{g/ml}$ Fluocortulon zwar eine Regenerationsförderung der Granulopoese feststellen, beobachtete aber gleichzeitig die Hemmung der Reifung in der Granulopoese sowie die Proliferationshemmung der Erythropoese.

Keine Veränderungen der Granulopoese konnten FINCH (17) nach Gabe von 20 bzw. 40 mg/die ACTH und 50 bzw. 100 mg/die Cortison sowie GROSS und SIECKE (23) nach Injektion von 50 mg ACTH feststellen. Zu der gleichen Schlußfolgerung kam FERRARI (16) nach seinen Tierversuchen mit Prednisolon und auch BOLL (8) konnte bei niedrigen Prednisolonkonzentrationen keine eindeutige Aussage machen.

Eine Hemmung der Hämatopoese durch die Corticosteroide wurde in folgenden Arbeiten beschrieben:

Eine Verminderung der Gesamtzellzahl im Knochenmark des Kaninchens um 25 % bei Gabe von 1,25 $\mu\text{g/kg}$ Körpergewicht Prednisolon stellte FLEISCHER (18) nach 14 Tagen fest. Die Verminderung der Gesamtzellzahl wurde ebenfalls von BAKER und INGLE (3) sowie von ROBBINS (44) bei 20-tägiger Gabe von ACTH beobachtet. Eine Verringerung bevorzugt der unreifen weißen Vorstufen konnten BERMAN und GORDON (6)

unter dem Einfluß von 3 mg/die Cortison, DONTONWILL (13) und SCHMID-BIRCHER (46) bei Cortisonkonzentrationen von 7,5 bis 15,0 mg/kg und WALLON und BROWAEYE (55) nach Cortisoninjektionen in vivo beobachten. Eine Abnahme der Mitoserate der menschlichen Granuloblasten beobachtete MÜLLER (38) bei Gaben von 1,5 bis 4,0 μ g/kg Körpergewicht Prednisolon, wenngleich niedrige Konzentrationen von 0,75 μ g/kg Körpergewicht zur Regenerationsförderung führten.

Im Rattenknochenmark beschrieb RAPPAY (42) unter dem Einfluß von 0,5 μ g/ml Hydrocortison in vitro eine Regenerationshemmung. Desgleichen fand NOWELL (39) in vitro eine linear dosisabhängige Abnahme der Mitoserate menschlicher Granuloblasten unter dem Einfluß von Prednisolon-21-Phosphat. NOWELL verwandte Dosen zwischen 2,0 und 10,0 μ g/ml Prednisolon-21-Phosphat, wobei er schon bei geringen Konzentrationen einen Rückgang der Mitosen auf 25 % der Kontrollwerte erzielte.

Unter Einwirkung von Triamcinolon- bzw. Prednisolonacetat in Konzentrationen von 0,25 μ g/ml fanden WEISSENFELS und BOLL (9) eine Proliferationshemmung der Erythropoese als auch der Granulopoese des menschlichen Knochenmarkes.

F R A G E S T E L L U N G

Diese widersprüchlichen Versuchsergebnisse über die Wirkung der Corticosteroide am menschlichen Knochenmark in vitro veranlassten BOLL, die Wirkung weiterer Corticosteroide auf die Proliferation des Knochenmarkes in in-vitro-Versuchen zu untersuchen.

Die Wirkung der Konzentration von $0,25 \mu\text{g/ml}$ Hydrocortison wurde bereits von GLÖCKLER (22) untersucht. Erst in vierfacher Dosis hat Hydrocortison denselben antiinflammatorischen Effekt wie das von BOLL und WEISSENFELS (9) geprüfte Prednisolonacetat. Da die Dosisabhängigkeit des Corticoideffektes aus den Versuchen von GILETTE und BUCHSBAUM (21), MACIERA (35), NOWELL (39) und TAIFOUR (50) hervorgeht, lag nahe, mit derselben Versuchsanordnung und viermal höherer Dosis, also $1 \mu\text{g/ml}$ statt $0,25 \mu\text{g/ml}$ Hydrocortison zu prüfen, ob lediglich die Konzentration für den die Proliferation fördernden bzw. hemmenden Effekt verantwortlich ist. Andernfalls wäre ein unterschiedlicher Effekt eines weiteren Corticoidderivates an der Proliferation der Hämatopoese direkt nachgewiesen.

M E T H O D E u n d A R B E I T S G A N G

Das für unsere Versuche notwendige Knochenmark erhalten wir als Sternalpunktat von 6 Patienten. Ein Teil des Markes wird noch am Krankenbett auf einem Objektträger ausgestrichen, fixiert und später nach Pappenheim gefärbt. Das so erhaltene Originalpräparat liefert uns neben diagnostischen Hinweisen Ausgangswerte für die Beurteilung der qualitativen und quantitativen Zellveränderungen sowie der Reifungs- und Mitosephasenverschiebung, die in der Kultur auftreten.

Der übrige Teil des Knochenmarkes wird nach der von BOLL (7) modifizierten CARREL'schen Methode kultiviert. Hierzu stellt man in einer durch UV-Strahlung keimarmgehaltenen Impfkapsel ein Koagulum, bestehend aus 10 % Corrhormon^R, 10 % in 0,9 % NaCl-Lösung gelöstes Hydrocortison, 30 % autologem Serum und 50 % autologem Plasma, her, das als Kulturmedium dient. Die Hydrocortisonkonzentration im Koagulum beträgt auf diese Weise 1 µg/ml.* Ein aufgelegtes Markbröckchen wird mit einem Tropfen Serum, das die gleiche Corticosteroidkonzentration wie das Koagulum selbst enthält, bedeckt. Nachdem darüber ein Hohlschliffobjektträger befestigt wurde, wird das Ganze umgedreht und nach Verschluss der Deckglasränder mit ver-

* Der Firma SCHERING sind wir für die Überlassung der Substanz zu Dank verpflichtet.

flüssigem Hartparaffin als hängender Tropfen bei 37°C bebrütet. In der gleichen Weise werden zum Vergleich Kontrollkulturen ohne Corticoidzusatz mit 40 % autologem Serum angelegt.

Nach jeweils 24, 48 und 72 Stunden werden von jeder Kultur drei Ausstriche angefertigt und nach Pappenheim gefärbt.

Diese Ausstriche stellen die Grundlage für unsere Zählungen dar. Am qualitativ besten Präparat werden nach Möglichkeit 2 000 Zellen differenziert.

Folgende Zellen des menschlichen Knochenmarkes können differenziert werden:

A. in der Erythropoese:

Proerythroblast	(PE)
basophiler Erythroblast	(bE)
polychromatischer Erythroblast	(pE)
oxyphiler Erythroblast	(oE)
reifer Erythroblast	(rE)

B. in der Granulopoese:

Myeloblast	(MB)
Promyelozyt	(PM _y)
neutrophiler Myelozyt	(My)
eosinophiler Myelozyt	(eMy)
basophiler Myelozyt	(bMy)
Promonozyt	(Pmo)

Metamyelozyt	(MM)
Stabkerniger Granulozyt	(Stab)
neutrophiler Segmentkerniger Granulozyt	(Seg)
eosinophiler Segmentkerniger Granulozyt	(e Seg)
basophiler Segmentkerniger Granulozyt	(b Seg)
Monozyt	(Mo)

C. von den übrigen Zellen:

Plasmazellen
große Retikulumzellen
kleine Retikulumzellen
phagocytierende Retikulumzellen
Lymphoblasten
Lymphozyten
Megakaryoblasten
Megakaryozyten

Nach BOLL (8) können 6 Mitosephasen unterschieden werden:

Prophase	P
frühe Metaphase	fM
späte Metaphase	sM
Anaphase	A
Telophase	T
Rekonstruktionsphase	R

Um eine Übersicht über das so erhaltene Zahlenmaterial zu gewinnen, werden für jeden Versuch, getrennt in Erythro- und Granulopoese, sogenannte Reifungskurven aufgezeichnet, die die prozentuale Verteilung der einzelnen Zellarten in Abhängigkeit von der Kultivierungszeit graphisch darstellen. In einer Mittelwertskurve werden diese Reifungskurven für alle Versuche zusammengefaßt.

In der karyologischen Kurve wird die prozentuale Mitosephasenverteilung aller Versuche dargestellt.

Die G/E-Indices veranschaulichen das Zellzahlenverhältnis der Granulopoese zur Erythropoese zur entsprechenden Kultivierungszeit. (Beispiel s.S.19)

Die in $\frac{0}{100}$ angegebenen Mitoseindices errechnen sich aus der Anzahl der Mitosen auf 1 000 teilungsfähige Zellen der Erythro- bzw. Granulopoese. (Beispiel s.S.19)

Als teilungsfähig werden folgende Zellen angesehen:

In der Erythropoese alle Zellen mit Ausnahme der reifen Erythroblasten. In der Granulopoese die Myeloblasten, die Promyelozyten, die Myelozyten, die Metamyelozyten und die Promonozyten.

Mit Hilfe des χ^2 -Testes nach H. PEARSON wird geprüft, ob aufgetretene Differenzen zwischen den Kontrollwerten und den Kulturwerten als rein zufällig anzusehen sind

oder ob sie statistisch als signifikant bezeichnet werden können. Nähere Erläuterungen zum Test sind bei BELITZ (5) und CAVALLI-SFORZA (10) zu finden. Der χ^2 -Test wird hier zur Signifikanzberechnung sämtlicher Versuche sowie der lymphatischen Zellen herangezogen. Auch die Änderung der Mitosehäufigkeit wird mit Hilfe des χ^2 -Testes auf Signifikanz untersucht. Nachstehend wird für die Anwendung des χ^2 -Testes ein Beispiel angeführt. (s.S.20,21)

Beispiel für den G/E-Index:

$$G/E = \frac{\text{Gesamtzellzahl der Granulopoese}}{\text{" " Erythropoese}}$$

$$G/E = \frac{1267}{611} = 2,07$$

Beispiel für den Mitoseindex:

$$\text{roter Mitoseindex} = \frac{\text{Anzahl der Mitosen} \times 1\,000}{\text{teilungsfähige Zellen der roten Reihe}}$$

$$r\ MI = \frac{15 \times 1\,000}{525} = 28,57$$

$$\text{weißer Mitoseindex} = \frac{\text{Anzahl der Mitosen} \times 1\,000}{\text{teilungsfähige Zellen der weißen Reihe}}$$

$$w\ MI = \frac{6 \times 1\,000}{618} = 9,71$$

Beispiel für die Signifikanzberechnung:

Versuch 1 Erythropoese 24 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	Kontrolle+Zusatz	p
PE	30	66	96	0,0544
bE	214	110	324	0,1835
pE	148	218	366	0,2072
bE	4	17	21	0,0119
rE	375	584	959	0,5430
$a_1 =$	771	$b_1 =$	995	$c =$ 1766
				1,0000

Zelltyp	$E_{\text{Kontrolle}}$	E_{Zusatz}	$(B-E)^2/E_{\text{Kontr.}}$	$(B-E)^2/E_{\text{Zusatz}}$
PE	41,9	54,1	3,38	2,62
bE	141,5	182,6	37,15	28,87
pE	159,7	206,2	0,86	0,68
oE	9,2	11,8	2,93	2,29
rE	418,7	540,3	4,56	3,53
$a'_1 =$	771,0	$b'_1 =$	995,0	$x^2_4 =$ 48,88
				$x^2_4 =$ 37,99

$x_{\text{ges.}} = 86,87$ $p < 10^{-10}$ hochsignifikant

B = Beobachtungswert

E = Erwartungswert $= \frac{\text{Kontrolle} + \text{Zusatz}}{c} \times a_1$ (bzw. b_1)

p = Wahrscheinlichkeitswert

$= \frac{\text{Kontrolle} + \text{Zusatz}}{c}$ wobei $c = a_1 + b_1$

Anwendung des χ^2 -Testes für die Signifikanzberechnung
der Mitosen (Beispiel)

24 Stunden			rote Reihe		
Versuch	Kontrolle		Zusatz		
1	11	-	396	18	- 411
2	5	-	376	7	- 392
3	2	-	258	2	- 234
4	2	-	485	6	- 594
5	2	-	274	7	- 258
6	6	-	320	9	- 323

$$B_M = 28 \quad B_{M+N} = 2109 \quad B_M = 49 \quad B_{M+N} = 2212$$

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	28	2081	2109	37,6	2071,4
Zu	49	2163	2212	39,4	2172,6
Su	77		4321		

Ko = Kontrolle

Zu = Zusatz

Su = Summe

B_M = Beobachtungswert Mitosen

B_N = Beobachtungswert Nichtmitosen

E_M = Erwartungswert Mitosen

E_N = Erwartungswert Nichtmitosen

B_{M+N} = Beobachtungswert Mitosen + Nichtmitosen

E_M = Summe der Mitosen
Su.d.Gesamtzellzahl
 multipliziert mit

$$B_M + N$$

$$E_N = B_{M+N} - E_M$$

p = Wahrscheinlichkeitswert

$$\text{Ko: } E_M = \frac{77 \times 2109}{4321} = 37,6$$

$$E_N = 2109 - 37,6 = 2071,4$$

$$\text{Zu: } E_M = \frac{77 \times 2212}{4321} = 39,4$$

$$E_N = 2212 - 39,4 = 2172,6$$

$$\text{Ko: } B_M - E_M = 9,6 \quad \frac{(B-E)^2}{E} = 2,5$$

$$B_N - E_N = 9,6 \quad \frac{(B-E)^2}{E} = 0,0445$$

$$\text{Zu: } B_M - E_M = 9,6 \quad \frac{(B-E)^2}{E} = 2,3$$

$$B_N - E_N = 9,6 \quad \frac{(B-E)^2}{E} = 0,0424$$

$$\chi^2_1 = 4,887$$

$$\chi^2_1 = \left(\frac{(B-E)^2}{E} \right)$$

$$p = 0,025$$

nicht signifikant

ERGEBNISSE

Knochenmarksproben von 6 Patienten, die zur Zeit der Punktion keiner Corticosteroidtherapie ausgesetzt waren, dienen uns als Arbeitsmaterial, an dem wir die Wirkung von Hydrocortison auf die Zellproliferation menschlicher Knochenmarkszellen in vitro untersuchen.

Da pro Stichprobe ungefähr 2 000 Zellen ausgezählt wurden, liegen uns 86 907 ausgezählte Zellen als Untersuchungsmaterial vor.

Reifungskurven, Mitoseindices, karyologische Kurven und G/E-Indices helfen das vorhandene Zahlenmaterial zu veranschaulichen.

Die Reifungskurven erhalten wir durch additives Auftragen der Zellen unterschiedlicher Reifungsgrade auf der Abszisse und Angabe der Kultivierungszeit in Stunden auf der Ordinate des Diagramms.

Versuch 1 : Mit dem Knochenmark der Patientin E.P.,
91 Jahre, und 1 µg/ml Hydrocortison als Zusatz.

Klinische Diagnose : Eisenmangelanämie bei Eisenresorptions-
störungen, Periarthritis humeroscapularis
links.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion :

10 mg Valium^R, 80 mg Ferrlecit/die,
Lanacor^R 2x1 Tabl./die.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion :

Hämatokrit	= 29 %
Hb	= 9,4 g%
Erythrozyten	= 440 Mill/µl
Hb _E	= 21,4 pg
Leukozyten	= 4 600 /µl
Thrombozyten	= 278 000 /µl

A) Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und
Granulopoese in den Kulturen . (Abb.1)

In den Kontrollkulturen der Erythropoese kommt
es in der bekannten Weise zur Zunahme der reifen
Erythroblasten, die wie üblich nach 48 Stunden in
eine Abnahme übergeht. Unter dem Einfluß des Hydro-
cortisons tritt dieser Tendenzwechsel bereits bei
24 Stunden ein, als die basophilen und polychromatischen
Erythroblasten gegenüber den Kontrollen vermindert sind.
Nach 72 Stunden sind in beiden Kulturen annähernd gleich
viele reife Erythroblasten zu finden.

Die Reifungsförderung der Erythropoese bei 24 Stunden unter Hydrocortisonzusatz ist signifikant.

In der Granulopoese können wir unter Hydrocortisoneinfluß nicht wie in der Kontrolle eine Abnahme, sondern eine Zunahme der Segmentkernigen, d.h. eine Linksverschiebung der Kurve feststellen, die bis 48 Stunden zunimmt, um dann ungefähr auf den Kontrollwert zu gehen. Die Signifikanz wurde für alle Kultivierungszeiten nachgewiesen.

B) G/E-Indices (Tab. 1, Seite 45)

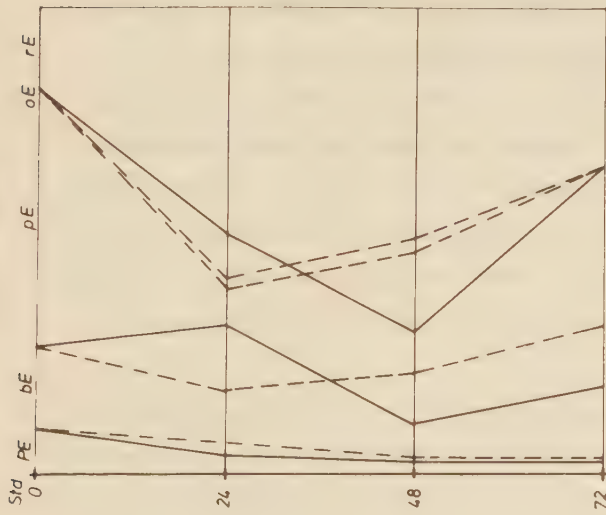
Die G/E-Indices der Kontrollkulturen liegen bei 24 Stunden über, bei 48 und 72 Stunden unter denen der Zusatzkulturen, wobei die Indices der Zusatzkulturen stetig ansteigen, d.h. eine relative Zunahme der Granulozyten gegenüber den Erythroblasten zu verzeichnen ist.

C) Regeneration (Tab. 2 + 3, Seite 47)

Der Mitoseindex der Erythroblasten (r MI) der Hydrocortisonzusatzkultur liegt bei 24 Stunden erheblich über dem der Kontrollen. Bei 48 Stunden ist er annähernd gleich und bei 72 Stunden stark unter den der Kontrollkulturen gesunken.

Der Mitoseindex der Granulozyten (w MI) der Zusatzkultur ist bei 24 und 48 Stunden deutlich höher als der der Kontrollen, was jedoch bei 72 Stunden in das Gegenteil umschlägt.

Erythropoese



— Kontrolle
 --- Hydrocortison 1µg/ml

Granulopoese

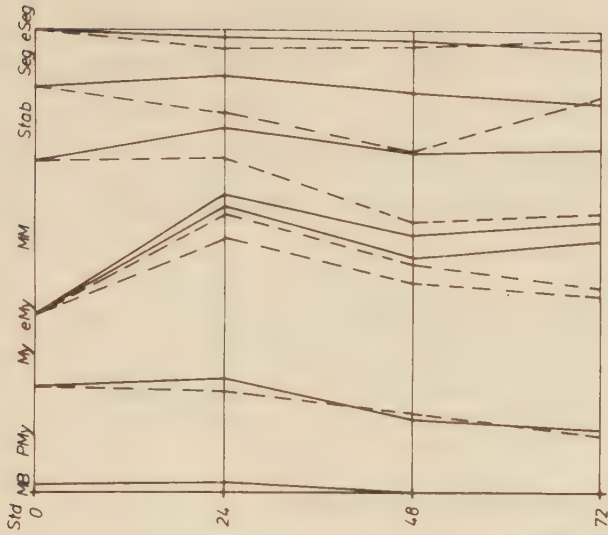


Abb 1: Reifungskurven, E P.

Versuch 2 : mit dem Knochenmark der Patientin B.L.,
82 Jahre, und 1 µg/ml Hydrocortison als
Zusatz.

Klinische Diagnose : Sideroachrestische Anämie,
Hypertonus und frisch entdeckter Alters-
diabetes.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion :

7,5 mg Valium^R , 3xl Pepsalette^R ,
2x 0,2 mg Sedaraupin^R , 1 Tabl. Presinol^R ,
Lanicor^R 1xl Tabl./die.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion :

Hb = 8,0 g %
Erythrozyten = 2,5 Mill/µl
Hb_E = 32,0 pg
Leukozyten = 4 200 / µl

A) Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und

Granulopoese in den Kulturen (Abb. 2)

Unter Hydrocortisonzusatz kommt es in der Erythropoese
zur verstärkten Ausreifung und damit zur ausgeprägteren
Zunahme der reifen Erythroblasten bis 48 Stunden. Diese
Entwicklung ist jedoch nach 72 Stunden rückläufig, wann
es zu einer annähernd gleich starken Ausreifung kommt.

In der Granulopoese finden wir bei den Kontrollkulturen
die übliche Stimulation nach 24 Stunden. In den Zusatz-
kulturen können zu diesem Zeitpunkt erheblich mehr reife

Granulozyten festgestellt werden, was sich in einer Linksverschiebung der Kurve ausdrückt, die bei 72 Stunden noch zunimmt, so daß hier von einer Reifungsförderung, die zudem signifikant ist, gesprochen werden kann.

B) G/E-Indices (Tab. 1)

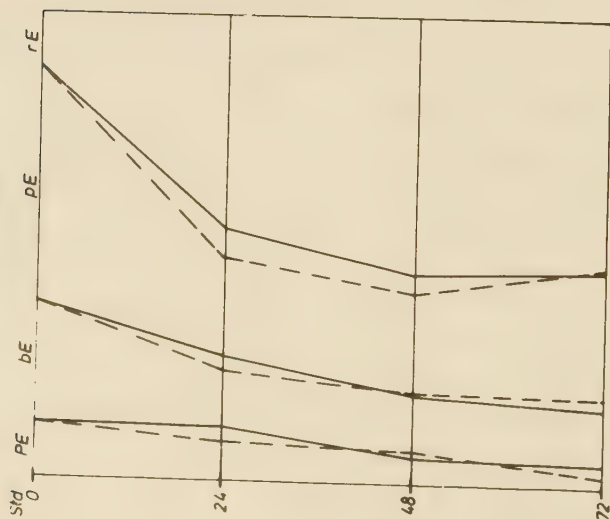
Die G/E-Indices der Kontrollkulturen sind stets niedriger als die der Zusatzkulturen. Alle G/E-Indices dieses Versuches steigen kontinuierlich im Laufe der Tage an, d.h. es kommt auch hier zu einer relativen Zunahme der Granulozyten gegenüber den Erythroblasten.

C) Regeneration (Tab. 2 + 3)

Der rote Mitoseindex der Hydrocortisonzusatzkultur ist mit Ausnahme des 72-Stunden-Wertes stets erhöht, besonders bei 48-Stunden.

Der weiße Mitoseindex ist in den Zusatzkulturen deutlich erhöht.

Erythropoese



Granulopoese

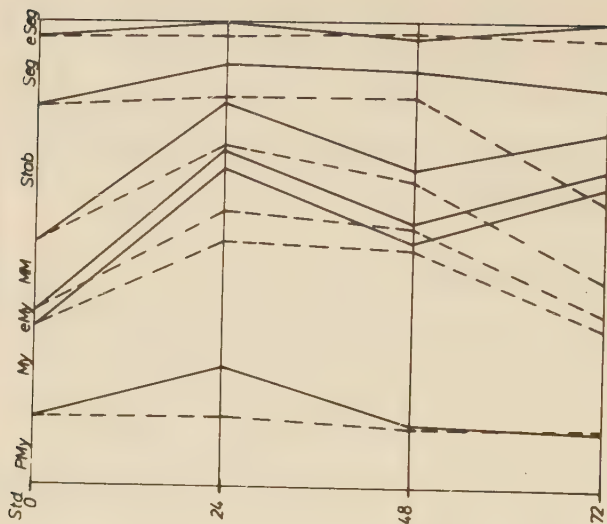


Abb. 2: Reifungskurven, B. L.

Versuch 3: mit dem Knochenmark des Patienten L.N.,
33 Jahre, und 1 µg/lm Hydrocortison als
Zusatz.

Klinische Diagnose: chronische Lymphadenitis

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion:

keine Therapie

Blutbild am Tage der Sternalpunktion:

Hb	= 13,0 g%
Erythrozyten	= 430 Mill/µl
Hb _E	= 30,2 pg
Leukozyten	= 7.900 /µl
Eosinophile	= 2 %
Segmentkernige	= 69 %
Lymphozyten	= 22 %
Monozyten	= 7 %

A) Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und
Granulopoese in den Kulturen. (Abb. 3)

In der Erythropoese kommt es unter Hydrocortison-
einfluß bei 24 Stunden zu einer geringen Verzögerung
der Ausreifung, die dann bei 72 Stunden in eine Rei-
fungsförderung übergeht.

In der Granulopoese finden wir eine signifikante Zu-
nahme der teilungsfähigen Granulozyten, also eine
Rechtsverschiebung der Kurve bis 72 Stunden unter dem
Einfluß von Hydrocortison auf die Kultur.

B) G/E-Indices (Tab. 1)

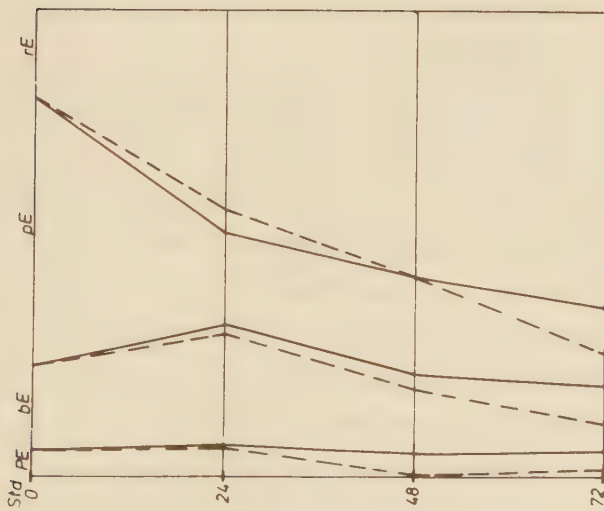
Die G/E-Indices sind bei 24 und 48 Stunden etwa gleich, bei 72 Stunden liegt der Wert für die Zusatzkultur unter dem für die Kontrollen.

C) Regeneration : (Tab. 2 + 3)

Die roten Mitoseindices der Zusatzkulturen sind in besonderem Maße bei 48 Stunden erhöht, bei 72 Stunden ließen sich keine Mitosen mehr differenzieren.

Der weiße Mitoseindex der Kontrollkultur liegt bei 24 Stunden leicht über, bei 48 Stunden deutlich unter dem der Zusatzkultur. Bei 72 Stunden sind die Indices annähernd gleich.

Erythropoese



— Kontrolle
 - - - - - Hydrocortison 1 µg / ml

Granulopoese

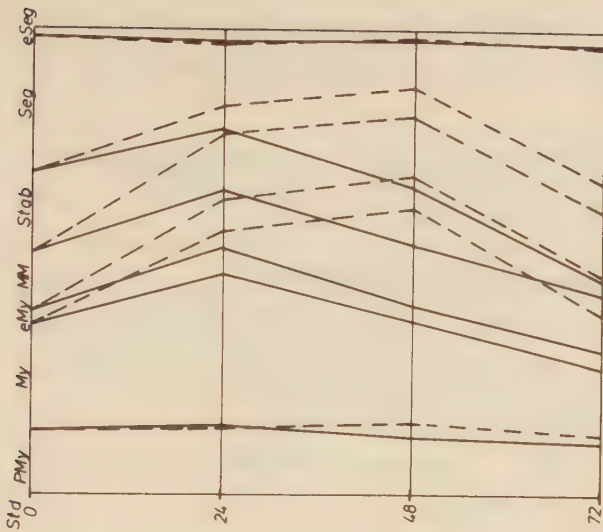


Abb 3: Reifungskurven, L. N.

Versuch 4: mit dem Knochenmark der Patientin K.H.,
51 Jahre, und 1 µg/ml Hydrocortison als
Zusatz.

Klinische Diagnose : Erosive Gastritis, Retikuloze,
Harnwegsinfekt.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion :

4x2 Btl. Velyn^R, Atropin sulf. 3x1/2 mg Tabl.,
Magnosil^R 3x1 Eßl., Pastulen^R 3x1 Tabl.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion :

Hb	= 9,4 g%
Erythrozyten	= 2,95 Mill/µl
Hb _E	= 31,8 pg
Leukozyten	= 3 600 /µl
Basophile	= 1 %
Eosinophile	= 2 %
Stabkernige	= 3 %
Segmentkernige	= 56 %
Lymphozyten	= 35 %
Monozyten	= 3 %

A) Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und

Granulopoese in den Kulturen (Abb. 4)

In der Erythropoese finden wir bei diesem Versuch in den
Kontrollkulturen keine starke Vermehrung der reifen
Erythroblasten. Bis 48 Stunden ist die Reifung wesentlich
geringer als üblich und nähert sich erst bei 72 Stunden
den normalen Werten. In der Zusatzkultur kommt es zur

kontinuierlich zunehmenden gegenüber den Kontrollkulturen verstärkten Ausreifung der Erythroblasten.

In der Granulopoese ist der übliche Stimulationsknick bei 24 Stunden in den Kurven der Kontrollkultur hier nur andeutungsweise vorhanden. Dagegen kommt es unter Hydrocortisoneinfluß bei 24 Stunden zur deutlichen Zunahme der teilungsfähigen Zellen, die bei 48 Stunden in eine Abnahme, also Ausreifung, übergeht. Bei 72 Stunden sind in beiden Kulturen annähernd gleich viele teilungsfähige Granulozyten vorhanden.

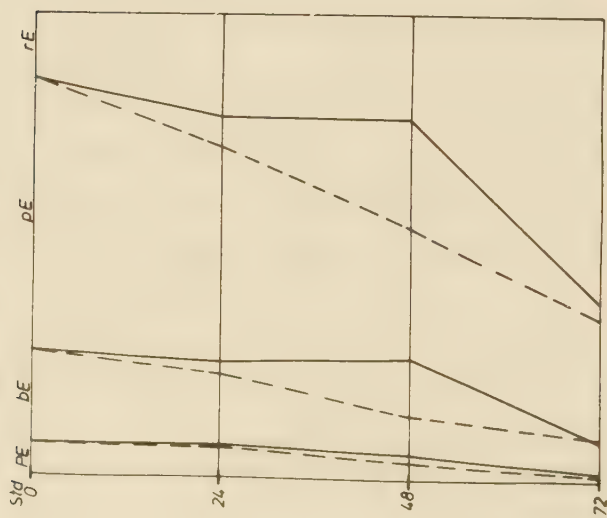
B) G/E-Indices (Tab. 1)

Der G/E-Index für die Zusatzkultur ist bei 24 Stunden unerheblich niedriger, bei 48 und 72 Stunden etwas höher als der der Kontrollkultur.

C) Regeneration (Tab. 2 + 3)

Die roten Mitoseindices der Zusatzkulturen sind stets deutlich höher als die der Kontrollkulturen. Das gleiche gilt für die weißen Mitoseindices.

Erythropoese



— Kontrolle
 - - - Hydrocortison 1 µg/ml

Granulopoese

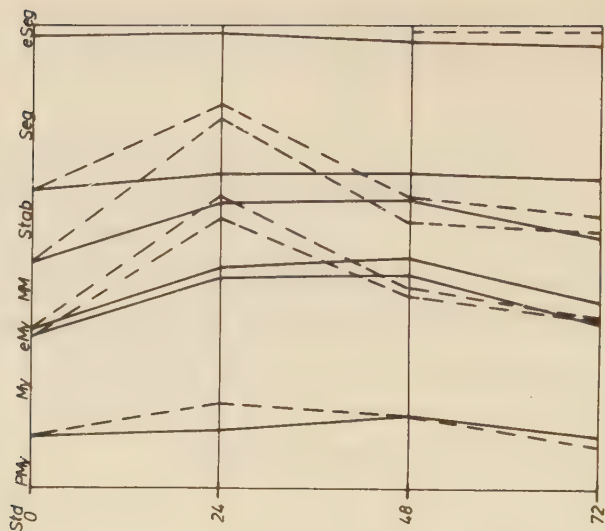


Abb. 4: Reifungskurven, K.H.

Versuch 5 : mit dem Knochenmark der Patientin W.M.,
83 Jahre, und 1 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison als
Zusatz.

Klinische Diagnose : Blutungsanämie bei 2 Ulcera duo-
deni, Linksherzinsuffizienz mit Stauungs-
pneumonie bei Mitralinsuffizienz und Ulcera
crurum an beiden Unterschenkeln, frisch
entdeckter Altersdiabetes.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion :

5 mg Valium^R , Lanicor^R 3x1 Tabl./die,
2 Pastulen^R , Binotal^R 4g,
Lasix^R 1 Tabl./die.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion :

Hämatokrit	=	28 %
Hb	=	9,0 g%
Erythrozyten	=	3,23 Mill / μl
Hb _E	=	27,6 pg
Leukozyten	=	11 100 / μl
Segmentkernige	=	92 %
Lymphozyten	=	4 %
Monozyten	=	4 %
Thrombozyten	=	170 000 / μl

A) Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und
Granulopoese in den Kulturen (Abb. 5)

In der Erythropoese finden wir unter Hydrocortison-
einfluß in diesem Versuch erst bei 48 Stunden eine

gegenüber den Kontrollkulturen verstärkte Vermehrung der reifen Erythroblasten, die bei 72 Stunden wieder etwas nachläßt.

In der im Original stark zugunsten der nichtteilungsfähigen Zellen verschobenen Granulopoese finden wir wie in Versuch 1 und 2 eine Linksverschiebung der Kurve, d.h. eine Zunahme der reifen Granulozyten. Innerhalb der Teilungsfähigen Granuloblasten beobachten wir allerdings unter Hydrocortisoneinfluß die Tendenz zur Vermehrung der unreifen Zellformen bei 24 Stunden, die jedoch nach 72 Stunden weitgehend wieder in eine Zunahme der ausgereiften Formen übergeht.

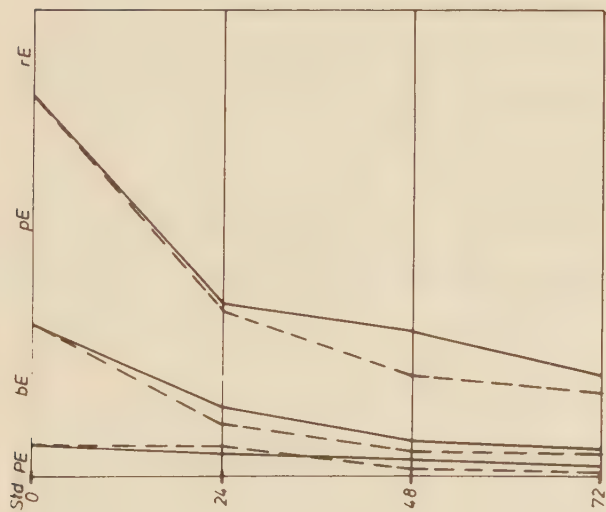
B) G/E-Indices (Tab. 1)

Die G/E-Indices der Kontroll- und Zusatzkulturen weichen nur unerheblich voneinander ab. Das Verhältnis der Granulozyten zu den Erythroblasten bleibt annähernd gleich.

C) Regeneration (Tab. 2 + 3)

Sowohl die roten wie auch die weißen Mitoseindices sind unter Hydrocortison zu allen Zeiten deutlich erhöht.

Erythropoese



Granulopoese

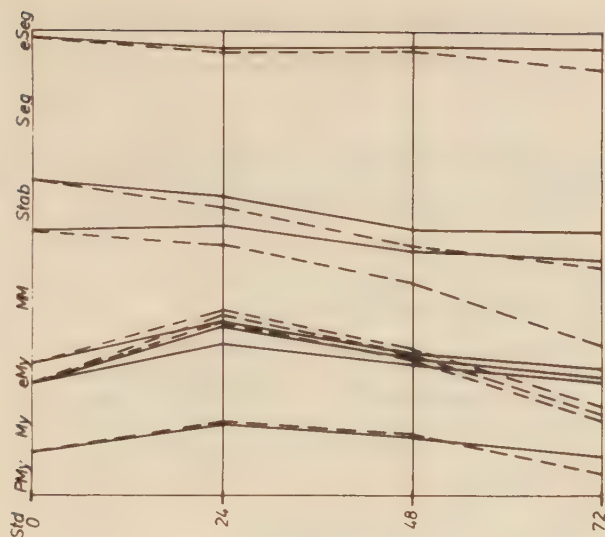


Abb 5 : Reifungskurven, W. M.

Versuch 6: mit dem Knochenmark des Patienten M.O.,
64 Jahre, und 1 µg/ml Hydrocortison als
Zusatz.

Klinische Diagnose : Ulcus ventriculi mit Blutung,
Spontanpneumothorax, chron. myeloische
Leukämie.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion :

Valium ^R 10 mg, Lanicor ^R 2x1 Tabl./die,
4x2 g Cephalotin ^R /die, Bisolvon ^R 3x40
Tropf./die, Ferreocit ^R 20 mg, Celospor ^R
4x2,0g/die.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion :

Leukozyten	=	29 900 / µl
Erythrozyten	=	3,30 Mill/ µl
Hb	=	8,8 g%
Hb _E	=	26,6 pg
Basophile	=	3 %
Eosinophile	=	4 %
Promyelozyten	=	2 %
Myelozyten	=	1 %
Metamyelozyten	=	1 %
Stabkernige	=	6 %
Segmentkernige	=	71 %
Lymphozyten	=	6 %
Monozyten	=	6 %

A) Knochenmarkzellreifung der Erythropoese und
Granulopoese in den Kulturen (Abb. 6)

Über eine fast gleich starke Ausreifung beider Kulturen bei 24 Stunden, kommt es in der Erythropoese bei 48 Stunden zur deutlichen Zunahme der unreifen Zellformen unter Hydrocortisoneinfluß, die jedoch bei 72 Stunden in eine Abnahme und damit eine Reifungsförderung übergeht.

In der Granulopoese ist in der Kontrolle die typische Reifungskurve der chronischen myeloischen Leukämie ausgeprägt: Es fehlt die Vermehrung der teilungsfähigen Zellen nach 24 Stunden und die Vermehrung der reifen Granulozyten nach 72 Stunden. In den Zusatzkulturen finden wir dagegen bei 24 Stunden eine deutliche Zunahme der teilungsfähigen Zellen, also eine Rechtsverschiebung der Kurve, die bei 48 Stunden in eine Linksverschiebung übergeht. Bei 72 Stunden finden wir unter Hydrocortison-einfluß eine starke Vermehrung der reifen Granulozyten.

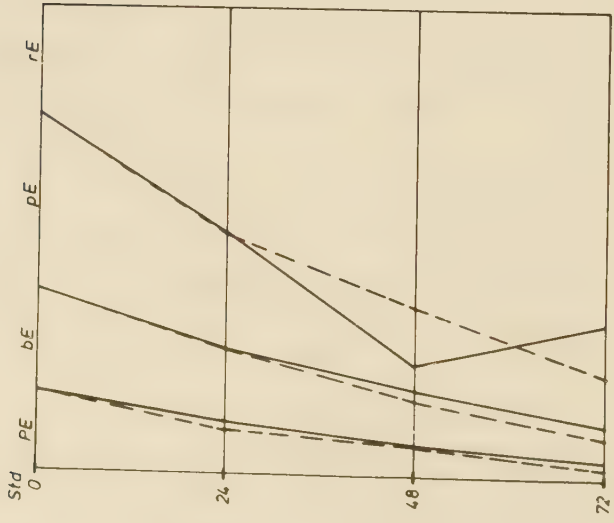
B) G/E-Indices (Tab. 1)

Der G/E-Index für die Zusatzkulturen liegt bei 24 und 48 Stunden etwas unter dem der Kontrollen, bei 72 Stunden etwas darüber.

C) Regeneration (Tab. 2 + 3)

Die roten wie die weißen Mitoseindices sind für die Zusatzkulturen stets deutlich erhöht, d.h. es findet eine Regenerationsförderung durch Hydrocortison statt.

Erythropoese



Granulopoese

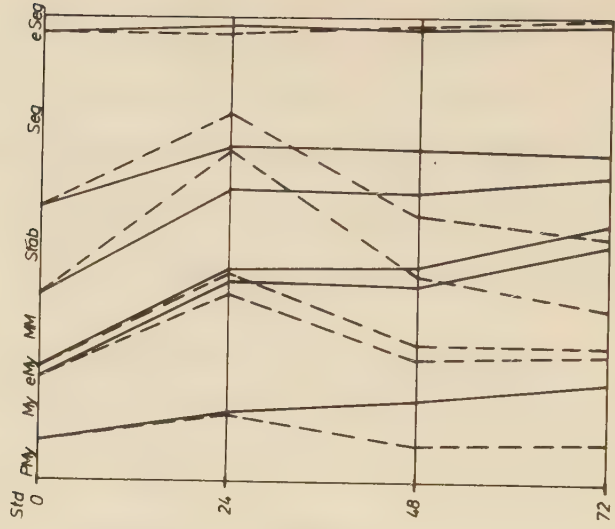
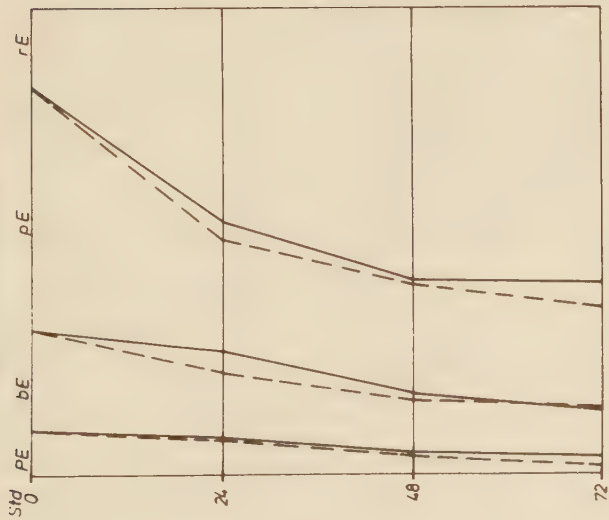


Abb 6: Reifungskurven, M.O.

— Kontrolle
 - - - Hydrocortison 1 µg/ml

Erythropoese



— Kontrolle
 --- Hydrocortison 1 µg/ml

Granulopoese

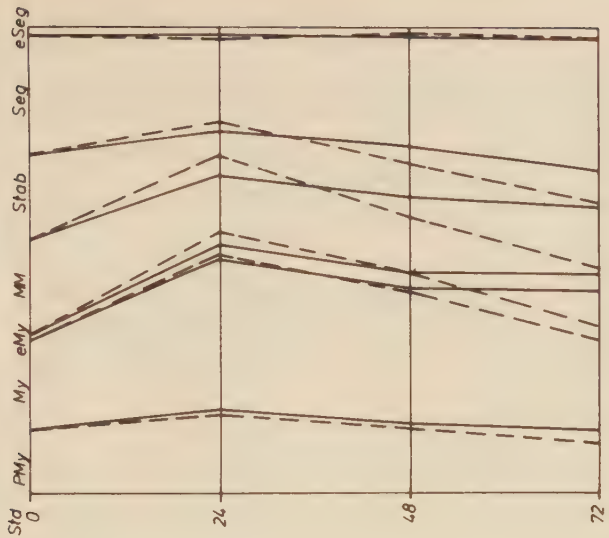
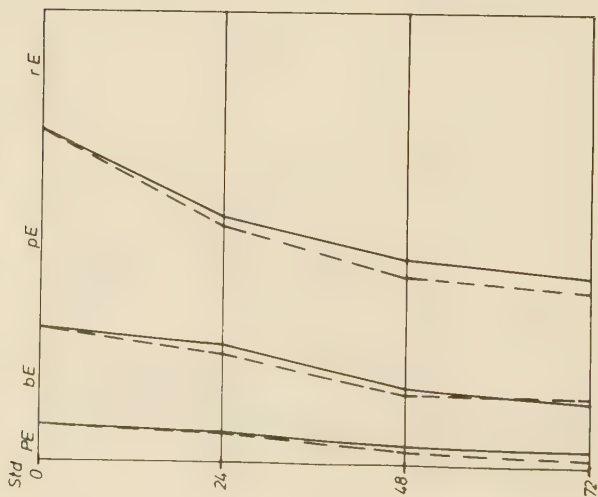


Abb. 7 : Mittelwertkurven aus 6 Versuchen

Erythropoese



— Kontrolle
 --- Hydrocortison 1µg/ml

Granulopoese

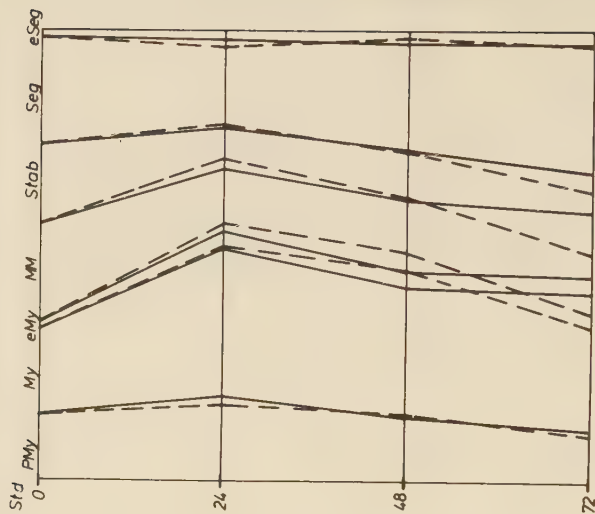


Abb. 7a : Mittelwertskurve aus 5 Versuchen (ohne Versuch 6)

Mittelwerte der Reifungskurven von 6 Versuchen : (Abb.7)

Anhand der Differentialzählungen aller 6 Versuche haben wir in Form einer Mittelwertskurve die prozentuale Verteilung aller 6 Versuche graphisch dargestellt.

Dabei fand sich in der Erythropoese unter Hydrocortison-einfluß eine Reifungsförderung, d.h. eine Linksverschiebung der Zusatzkurve gegenüber der Kontrollkurve. Es kommt zu der relativ geringen Linksverschiebung durch die bei 24 Stunden in Versuch 3 und bei 48 Stunden in Versuch 1 und 6 entgegengesetzt ausfallende Hydrocortison-wirkung. (s. auch Abb. 7 a)

In der Granulopoese kommt es mit Ausnahme des Promy-elozytenbereiches bei 24 Stunden zur Rechtsverschiebung der Kurve bei Hydrocortisonzusatz, d.h. einer Abnahme der ausgereiften Zellformen. Der Stimulationsknick bei 24 Stunden fällt also unter Corticosteroidzusatz stärker aus. Bei 48 und 72 Stunden sehen wir dann eine Linksverschiebung der Zusatzkurve, also eine Zunahme der ausgereiften Zellformen, die jedoch in der Mittelwertskurve aus nur 5 Versuchen (ohne Versuch 6, da bei diesem Versuch eine hämatologische Systemerkrankung vorliegt) verzögert auftritt, so daß wir hier nach 48-stündiger Kultivierung unter Hydrocortisoneinfluß noch immer eine Vermehrung der teilungsfähigen Zellen gegenüber den

Kontrollkulturen beobachten. (Abb. 7a) Durch das in Versuch 3 gegenteilig ausfallende Versuchsergebnis zeigt die Mittelwertskurve im 48- und 72-Stundenbereich eine geringere Abweichung von der Kontrollkurve, als dies entsprechend den Ergebnissen der übrigen 5 Versuche zu erwarten wäre. Die Reifungsförderung kann also etwas ausgeprägter angenommen werden, als es die Mittelwertskurve darstellt.

Zusammenfassung der G/E-Indices : (Tab. 1)

In den Kontrollkulturen fällt der mittlere G/E-Index nach 24 Stunden, um bei 72 Stunden den Ausgangswert wieder zu erreichen. Mit Ausnahme des Versuches 3 ist für die Zusatzkulturen ein kontinuierliches Ansteigen der G/E-Indices von 24 zu 72 Stunden festzustellen, zu allen Stichproben etwas über den Kontrollversuchen. Das bedeutet also, daß sich mit zunehmender Kultivierungszeit das Verhältnis der Granulozyten zu den Erythroblasten zugunsten der Granulozyten verschiebt. Innerhalb der einzelnen Versuche zeigen die G/E-Indices keine großen Schwankungen, sondern bleiben in vergleichbarer Größenordnung.

Tabelle 1 : G/E-Indices

Fall	Kontrollen				Hydrocortison		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	2,14	1,48	1,26	1,90	0,90	1,50	3,09
2	0,95	1,19	1,75	1,97	1,32	2,90	2,63
3	4,36	3,30	3,16	5,12	3,33	3,04	2,22
4	2,07	1,72	1,50	1,80	1,20	1,90	2,10
5	1,40	1,40	1,70	1,90	1,50	1,50	1,60
6	2,30	2,00	2,50	1,10	1,60	2,30	2,70
Summe	13,22	11,09	11,87	13,79	9,85	13,14	14,34
Mittelwert	2,20	1,85	1,98	2,30	1,64	2,19	2,39

Zusammenfassung der Mitoseindices der 6 Versuche :

(Tab. 2 + 3)

Der mittlere rote Mitoseindex liegt für die Kontrollkulturen erheblich unter dem Mitoseindex der Originalpräparate. Der mittlere Mitoseindex der Zusatzkulturen liegt bei 48 Stunden über den Kontrollwerten, um dann bei 72 Stunden auf annähernd die Hälfte abzusinken. Die Indices der Zusatzkulturen erreichen deutlich höhere Werte als die der Kontrollkulturen, d.h. es konnten sehr viel mehr Mitosen differenziert werden.

Eine Signifikanz konnte für die 24 und 48 Stundenwerte zusammen nachgewiesen werden.

Die mittleren weißen Mitoseindices, den Index des Originalpräparates wieder ausgenommen, fallen mit steigender Kultivierungszeit ab, in den Kontrollkulturen ebenso wie in den Zusatzkulturen. Die Indices der Zusatzkulturen liegen auch hier wieder höher als die der Kontrollkulturen. Eine Signifikanz konnte nach Zusammenfassung der Werte aller drei Versuchstage festgestellt werden.

Karyologische Kurven: (Abb. 8)

In Form der karyologischen Kurven stellen wir die prozentuale Mitosephasenverteilung der 6 Versuche graphisch dar.

Für die Kontrollkulturen der Erythropoese zeigt sich eine starke Verminderung bei den frühen Metaphasen, die unter Hydrocortisoneinfluß nicht zu beobachten ist. Allerdings konnten wir dafür nicht so zahlreiche Prophasen wie in den Kontrollkulturen differenzieren. Der charakteristische, häufig beschriebene Kurvengipfel bei den späten Metaphasen ist unter Hydrocortison etwas abgeschwächt.

Tabelle 2 : Mitoseindices für die Erythropoese in ‰

Fall	Kontrolle				Hydrocortison		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	32,39	27,78	29,20	45,35	43,79	27,78	12,77
2	32,14	13,30	19,84	11,83	17,86	44,33	4,95
3	10,95	7,76	5,08	-	8,55	14,90	-
4	28,57	4,12	5,30	20,30	10,10	11,00	27,00
5	8,10	7,30	23,20	6,70	27,10	30,10	13,60
6	38,70	18,70	-	3,50	27,90	36,50	20,00
Summe	150,85	78,96	82,62	87,68	135,30	164,61	78,32
Mittelwert	25,14	13,16	13,77	14,61	22,55	27,44	13,05

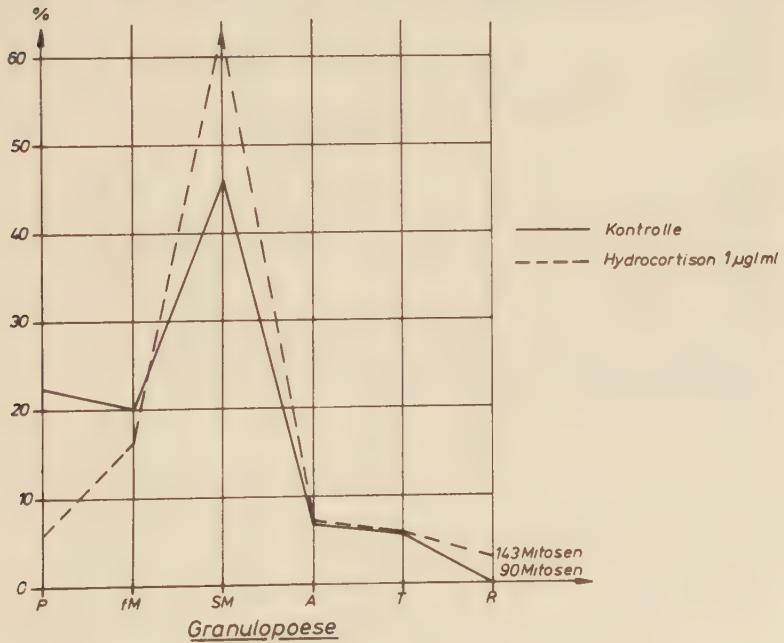
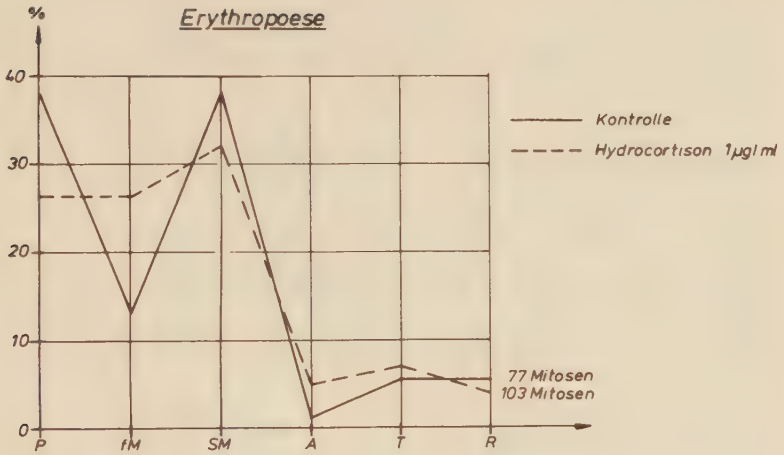
Tabelle 3 : Mitoseindices für die Granulopoese in ‰

Fall	Kontrolle				Hydrocortison		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	10,41	8,93	5,99	12,76	13,78	13,16	4,44
2	14,42	7,43	7,53	-	10,14	12,78	3,51
3	3,89	9,44	2,56	4,32	7,96	13,70	4,86
4	9,71	10,74	10,30	8,00	13,70	26,00	16,20
5	-	8,10	3,10	2,90	20,20	9,80	7,00
6	10,10	10,50	8,60	-	19,40	9,70	12,50
Summe	48,53	55,14	38,08	27,98	85,18	85,14	48,51
Mittelwert	8,09	9,19	6,35	4,66	14,20	14,19	8,09

Anaphasen und Telophasen wurden in den Zusatzkulturen etwas häufiger differenziert als in den Kontrollen, Rekonstruktionsphasen etwas seltener. Insgesamt wurden unter Hydrocortisoneinfluß mehr Mitosen differenziert als in den Kontrollkulturen.

Die karyologische Kurve für die Granulopoese zeigt ebenfalls eine größere Anzahl Prophasen in den Kontrollkulturen als in den Zusatzkulturen. Das gleiche trifft für die frühen Metaphasen zu. Der Gipfel bei den späten Metaphasen ist hier jedoch unter Hydrocortisonzusatz wesentlich höher. Anaphasen und Telophasen konnten annähernd gleich häufig differenziert werden. Rekonstruktionsphasen wurden in den Kontrollkulturen nicht gefunden, so daß auch hier der Wert für die Zusatzkultur höher ausfällt.

Abb.8: Karyologische Kurven



Retikulumzellen : (Abb. 9)

Der Einfluß des Hydrocortisons auf die großen und kleinen Retikulumzellen soll mit Hilfe der Tabellen 4 + 5 und der Mittelwertskurve (Abb. 9) veranschaulicht werden.

Die kleinen Retikulumzellen (Tab. 4) nehmen in den Kontrollen ebenso wie unter Hydrocortisonzusatz nach 24 Stunden leicht ab. Während es danach in den Kontrollkulturen wieder zu einer Vermehrung kommt, finden wir in den Zusatzkulturen mit zunehmender Kultivierungszeit weniger kleine Retikulumzellen.

Die großen Retikulumzellen (Tab.5) sind in den Zusatzkulturen stets leicht vermehrt. Nach 72-stündiger Kultivierung finden wir jedoch in beiden Kulturen annähernd gleich viele große Retikulumzellen.

Lymphozyten: (Tab. 6, Abb. 10)

In beiden Kulturen kommt es im Verlauf der Kultivierungszeit zum Anstieg der Lymphozytenzahl, der jedoch unter Hydrocortisoneinfluß stark verlangsamt ist und erst bei 72 Stunden die Höhe der Kontrollkulturen erreicht. Die Signifikanz wurde für die 24- und 48-Stundenwerte nachgewiesen.

Tabelle 4 : Anzahl der kleinen Retikulumzellen in % der Gesamtzellzahl

Fall	Kontrolle				Hydrocortison		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	1,63	1,04	1,83	2,18	2,83	1,34	1,84
2	4,01	2,48	2,83	4,33	2,65	1,99	1,67
3	2,89	1,49	3,40	1,85	0,14	3,06	2,02
4	1,78	1,80	2,35	2,27	2,18	2,26	1,43
5	3,70	2,77	2,03	2,62	2,16	1,70	2,11
6	2,13	3,47	1,44	1,90	3,27	1,13	1,85
Summe	16,14	13,05	13,88	15,15	13,23	11,48	10,92
Mittelwert	2,69	2,18	2,31	2,53	2,21	1,91	1,82

Tabelle 5 : Anzahl der großen Retikulumzellen in % der Gesamtzellzahl

Fall	Kontrolle				Hydrocortison		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	2,03	0,59	1,15	0,77	0,88	0,98	2,30
2	2,78	1,67	1,29	2,58	0,74	2,17	2,14
3	1,66	1,75	2,63	2,90	1,54	2,15	1,25
4	1,78	1,15	1,00	0,84	0,69	1,60	1,20
5	1,68	1,06	1,32	1,40	1,90	1,65	1,77
6	3,70	1,56	0,94	1,50	3,43	1,83	1,42
Summe	13,63	7,78	8,33	9,99	9,18	10,38	10,08
Mittelwert	2,27	1,30	1,39	1,67	1,53	1,73	1,68

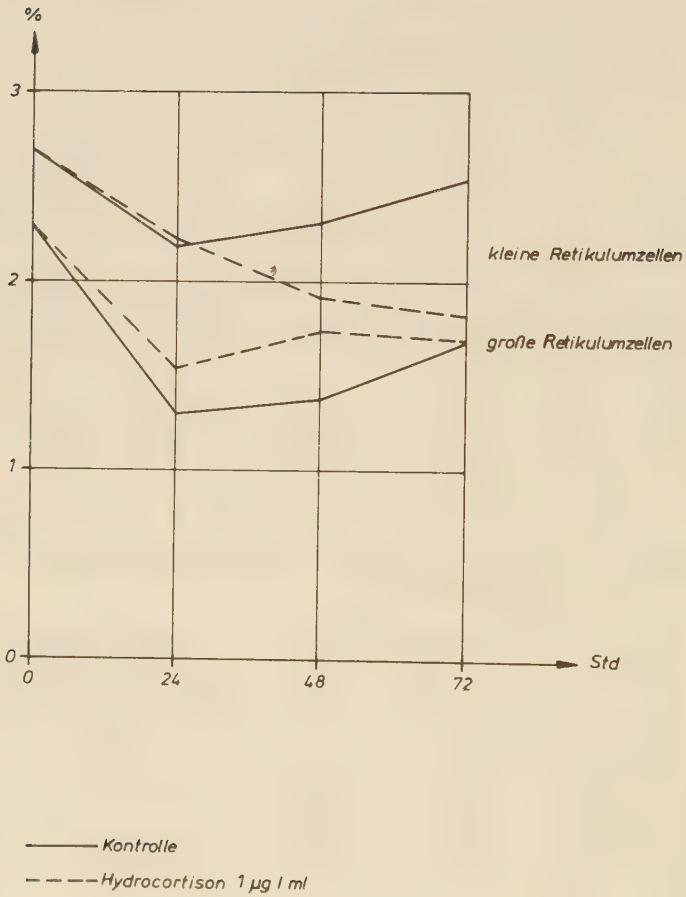


Abb. 9: Mittelwerte der Retikulumzellen

Tabelle 6 : Anzahl der Lymphozyten in % der Gesamtzellzahl

Fall	Kontrolle				Hydrocortison		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	4,29	10,91	8,62	15,23	7,05	8,90	18,93
2	7,61	10,45	15,23	12,43	5,81	10,92	13,65
3	5,04	5,24	5,48	0,81	6,29	2,29	1,88
4	2,82	3,72	4,75	8,84	5,06	6,08	5,61
5	5,28	5,04	5,24	6,34	4,26	4,51	5,10
6	2,68	4,69	4,37	4,44	4,44	1,97	4,11
Summe	27,72	40,05	43,69	48,09	32,91	34,67	49,28
Mittel- wert	4,62	6,68	7,28	8,02	5,49	5,78	8,21

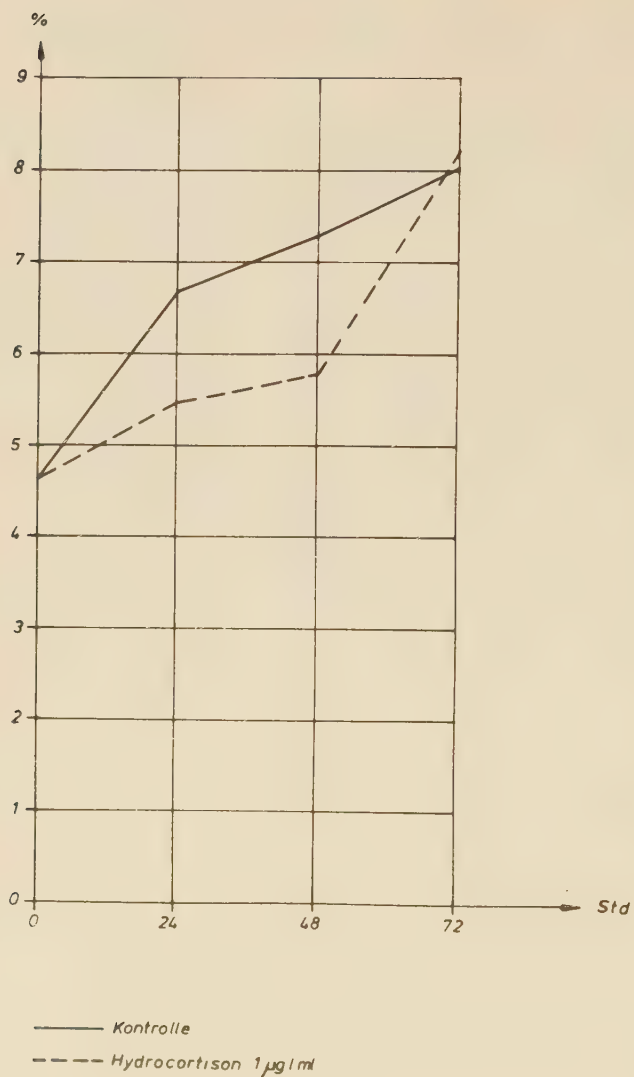


Abb. 10: Mittelwerte der Lymphozyten

Signifikanzberechnung:

Anhand des mit Hilfe des χ^2 -Testes nach H. PEARSON errechneten χ^2 -Wertes kann aus den χ^2 -Tafeln von BELITZ ein entsprechender p-Wert (probability - Wahrscheinlichkeitswert) abgelesen werden.

Dabei gilt für p :

- $p > 0,05$ Die Differenz ist zufallsbedingt
 $p < 0,01$ Die Differenz ist signifikant
 $p < 0,0027$ Die Differenz ist hochsignifikant.

Versuch 1:

Erythropoese

24 Std.	$\chi^2_4 = 30,94$	$p = 2,5 \times 10^{-6}$	hochsignifikant
48 Std.	$\chi^2_3 = 60,39$	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
72 Std.	$\chi^2_4 = 30,94$	$p = 2,5 \times 10^{-6}$	hochsignifikant

Granulopoese

24 Std.	$\chi^2_7 = 44,13$	$p = 6 \times 10^{-7}$	hochsignifikant
48 Std.	$\chi^2_7 = 114,67$	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
72 Std.	$\chi^2_8 = 111,57$	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant

Versuch 2:

Erythropoese

24 Std.	$x_3^2 =$	8,59	$p = 3,5 \times 10^{-2}$	nicht signifikant
48 Std.	$x_3^2 =$	3,82	$p = 2,8 \times 10^{-1}$	nicht signifikant
72 Std.	$x_3^2 =$	6,00	$p = 1,15 \times 10^{-1}$	nicht signifikant

Granulopoese

24 Std.	$x_6^2 =$	70,93	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
48 Std.	$x_6^2 =$	32,84	$p = 1,5 \times 10^{-5}$	hochsignifikant
72 Std.	$x_6^2 =$	249,67	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant

Versuch 3:

Erythropoese

24 Std.	$x_3^2 =$	6,03	$p = 1,15 \times 10^{-1}$	nicht signifikant
48 Std.	$x_3^2 =$	19,55	$p = 2 \times 10^{-4}$	hochsignifikant
72 Std.	$x_3^2 =$	18,66	$p = 3 \times 10^{-4}$	signifikant

Granulopoese

24 Std.	$x_6^2 =$	62,50	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
48 Std.	$x_6^2 =$	20,10	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
72 Std.	$x_6^2 =$	...	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant

Versuch 4:

Erythropoese

24 Std.	$x_3^2 =$	8,57	$p = 3,4 \times 10^{-2}$	nicht signifikant
48 Std.	$x_3^2 =$	96,20	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
72 Std.	$x_3^2 =$	8,75	$p = 3,4 \times 10^{-2}$	nicht signifikant

Granulopoese

24 Std.	$x_6^2 =$	116,29	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
48 Std.	$x_6^2 =$	31,40	$p = 2 \times 10^{-5}$	hochsignifikant
72 Std.	$x_6^2 =$	134,47	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant

Versuch 5:

Erythropoese

24 Std.	$x_3^2 =$	14,83	$p = 2 \times 10^{-3}$	signifikant
48 Std.	$x_3^2 =$	17,68	$p = 5 \times 10^{-4}$	signifikant
72 Std.	$x_3^2 =$	4,96	$p = 1,7 \times 10^{-1}$	nicht signifikant

Granulopoese

24 Std.	$x_8^2 =$	28,61	$p = 3,2 \times 10^{-4}$	signifikant
48 Std.	$x_8^2 =$	40,02	$p = 3 \times 10^{-6}$	hochsignifikant
72 Std.	$x_8^2 =$	137,28	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant

Versuch 6:

Erythropoese

24 Std.	$\chi^2_3 =$	0,83	$p > 1$	nicht signifikant
48 Std.	$\chi^2_3 =$	53,43	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
72 Std.	$\chi^2_3 =$	22,00	$p = 6,5 \times 10^{-5}$	hochsignifikant

Granulopoese

24 Std.	$\chi^2_6 =$	48,11	$p = 1 \times 10^{-8}$	hochsignifikant
48 Std.	$\chi^2_6 =$	116,24	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant
72 Std.	$\chi^2_6 =$	217,50	$p < 10^{-10}$	hochsignifikant

Signifikanzberechnung für die Mitosen

Rote Reihe

24 + 48 Stunden

$$\chi^2_1 = 7,88 \quad p = 0,005 \quad \text{signifikant}$$

Weiße Reihe

24 + 48 + 72 Stunden

$$\chi^2_1 = 11,21 \quad p = 0,0008 \quad \text{hochsignifikant}$$

χ^2 - Test für die Lymphozyten:

24 Std.	$\chi^2_5 =$	32,02	$p = 5 \times 10^{-4}$	signifikant
48 Std.	$\chi^2_5 =$	48,96	$p = 3 \times 10^{-9}$	hochsignifikant

ZUSAMMENFASSUNG der ERGEBNISSE

Die Wirkung von 1 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison auf menschliches Knochenmark in vitro wurde an Knochenmarksproben von 6 Patienten, die zur Zeit der Sternalpunktion keiner Corticosteroidtherapie ausgesetzt waren, untersucht. Die Proliferation wird getrennt nach Reifung und Regeneration beurteilt:

A) Reifung

a. Reifungskurven

In der Erythropoese wird die Reifung durch 1 $\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison in 5 von 6 Versuchen in unterschiedlich starkem Ausmaß gefördert. Eine Signifikanz kann jedoch nur teilweise nachgewiesen werden. Im Versuch 3 können wir praktisch keinen Einfluß des Corticosteroides auf die Erythropoese beobachten.

Wiederum mit Ausnahme von Versuch 3 können wir in der Granulopoese eine verstärkte Reifung erkennen, deren Signifikanz in allen Fällen nachgewiesen wird.

b. G/E-Indices

Hydrocortison bewirkt ein stärkeres kontinuierliches Ansteigen der G/E-Indices im Laufe der Kultivierungszeit, d.h. eine stetige Zunahme der Granulozyten gegenüber den Erythroblasten ab 48 Stunden gegenüber den Kontrollkulturen.

B) Regeneration

a. Mitoseindices

In allen 6 Versuchen zeichnet sich in der Erythropoese wie in der Granulopoese unter dem Einfluß von 1 µg/ml Hydrocortison eine signifikante Regenerationsförderung ab, die durch eine deutliche Erhöhung der Mitoseindices in den mit Hydrocortison behandelten Kulturen gekennzeichnet ist.

b. karyologische Kurve

In der Erythropoese und in der Granulopoese werden in den Zusatzkulturen deutlich weniger Prophasen differenziert als in den Kontrollkulturen. Während der Kurvengipfel bei den späten Metaphasen in der Erythropoese unter Hydrocortison weniger stark ausgeprägt ist, fällt der Gipfel in der Granulopoese deutlich höher aus als in den Kontrollkulturen, d.h. es kommt zu einer Verschiebung zu den späten Metaphasen. Während in der Granulopoese unter dem Einfluß des Hydrocortisons auch etwas mehr Anaphasen, Telophasen und Rekonstruktionsphasen beobachtet werden können, trifft dies in der Erythropoese nur für die beiden Erstgenannten zu. Im ganzen gesehen ähnelt aber die Verteilung der Mitosephasen in den Zusatzkulturen derjenigen der Kontrollkulturen.

C) Retikuläres Gewebe

Während die kleinen Retikulumzellen durch Hydrocortison vermindert werden, finden wir bei den großen Retikulumzellen in den ersten drei Kultivierungstagen ihre Ver-

mehrung in den Zusatzkulturen gegenüber den Kontrollkulturen, die dann jedoch nicht mehr nachzuweisen ist, so daß bei 72 Stunden kein Unterschied zwischen den Kulturen besteht.

D) Lymphopoese

In unseren Versuchen werden die Lymphozyten durch Hydrocortison signifikant vermindert, so daß sie erst am Ende der Kultivierung ähnliche Werte erreichen wie die der Kontrollkulturen.

D I S K U S S I O N

In unseren Untersuchungen an 5 nichtleukämischen und einem leukämischen menschlichen Knochenmark können wir durch $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ Hydrocortison eine Proliferationsförderung der Erythropoese sowie der Granulopoese feststellen. Somit stimmen wir zumindest teilweise mit einigen anderen Autoren überein: BOLL (8) fand bei der hohen Konzentration von $250\text{ }\mu\text{g/ml}$ Prednisolon ebenfalls eine Proliferationsförderung der weißen Reihe, die sie jedoch im Gegensatz zu unseren Ergebnissen bei geringeren Konzentrationen nicht mehr feststellen konnte. Ebenfalls bei etwas höheren Konzentrationen als wir sie verwandten, nämlich mit $0,5$ bis $5,0\text{ }\mu\text{g/ml}$ Prednisolon erzielten auch FARNES und BARKER (15) eine Proliferationssteigerung des Knochenmarkes. Bei geringeren Dosen Hydrocortison von $< 0,5\text{ }\mu\text{g/kg}$ Körpergewicht beobachtete VAHLQUIST (54) bei Kindern einen stimulierenden Effekt der Corticosteroide auf die Erythropoese. Die Reifungsförderung der Erythropoese durch $0,25\text{ }\mu\text{g/ml}$ Dexamethasonsulfat bzw. Prednisolonacetat wurde in vitro von WILDE (57) und SCHELLACK (45) ebenfalls festgestellt, während KOCH (33) eine Hemmung der Reifung mit Fluocortulon beobachtet.

Zu gleichlaufenden wenn auch weniger ausgeprägten Ergebnissen gelangte GLÖCKLER (22) bei Zusatz von

0,25 µg/ml Hydrocortison sowie von 0,25 µg/ml Corticosteron. GLÖCKLER konnte zudem analog zu unseren Ergebnissen auch die Tendenz zur Proliferationsförderung der Granulopoese, wenn auch in geringerem Ausmaß, feststellen. Abweichend von unseren Ergebnissen erzielte er in der Erythropoese mit 0,25 µg/ml Hydrocortison jedoch eine Regenerationshemmung, die auch von KOCH (33) in seinen Versuchen mit 0,25 µg/ml Fluocortulon beobachtet wurde. Die Reifung fand KOCH in der Erythropoese wie in der Granulopoese signifikant gehemmt.

Von WEISSENFELS und BOLL (9) wurde nach Zugabe von 0,25 µg/ml Triamcinolon bzw. Prednisolonacetat eine signifikante Proliferationshemmung sowohl der Erythropoese als auch der Granulopoese beschrieben. Obwohl die von uns verwandte Konzentration von 1 µg/ml Hydrocortison, gemessen an ihrem antiinflammatorischen Effekt, vergleichbar mit der von WEISSENFELS und BOLL angewandten Konzentration von 0,25 µg/ml Prednisolonacetat ist, werden also gegensätzliche Ergebnisse erzielt. Diese Diskrepanz ist nicht durch die unterschiedliche Hormondosis zu erklären. Eine mögliche Beeinflussung der Ergebnisse durch humorale und nervale Gegenregulation kann bei in-vitro-Versuchen unberücksichtigt bleiben.

Da anhand der vorliegenden Arbeiten aus unserem Labor (WEISSENFELS, SCHELLACK, WILDE, GLÖCKLER, KOCH) festgestellt werden kann, daß die verschiedenen Glucocorticoide

bei gleicher Dosierung oder bei gleich starker anti-inflammatorischer Wirksamkeit einen unterschiedlichen Einfluß auf die Proliferation des Knochenmarkes ausüben, sollte man annehmen, daß jedes Glucocorticoid über einen spezifischen pharmakokinetischen Effekt verfügt.

Die von uns verwandte Konzentration ist viermal so groß wie die der Versuche von GLÖCKLER. Dadurch beabsichtigen wir, eine stärkere Wirkung des Hydrocortisons auf das Knochenmark zu erzielen, ohne durch eine unphysiologisch hohe Dosis den therapeutischen Bereich zu verlassen. Nur dieser interessiert uns in diesem Zusammenhang, da wie in der Einleitung erwähnt, die Wirkung der Corticosteroide bei unphysiologisch hohen Dosen bereits weitgehend untersucht ist.

Eine Bestätigung der ebenfalls erwähnten Annahme, daß die Wirkung der Corticosteroide auf einem membranstabilisierenden Effekt beruhe, kann in der verlängerten Überlebenszeit der reifen Segmentkernigen gesehen werden, die wir in unseren Versuchen beobachten können. Die in Kultur gesetzten reifen Segmentkernigen degenerieren in 3 Versuchen (1,2 +5)unter Hydrocortisonzusatz nicht vor 24 Stunden. In allen Versuchen finden wir darüber hinaus nach 72-stündiger Kultivierung mehr Segmentkernige in den Zusatzkulturen als in den Kontrollkulturen.

Die von uns erzielten Ergebnisse im Hinblick auf die Lymphopoese entsprechen denen etlicher bereits erwähn-

ter Autoren (MORRISON und TOEFFER, THORMEY, ELVES, GABOUREL, ARONOW, JAFFE, KOCH), die wie wir eine Hemmung beobachten konnten. Die Auswirkungen auf das lymphatische System bei Corticosteroidgaben scheinen ohnehin prägnanter und sind infolgedessen besser erforscht.

Die Frage inwieweit es zu Veränderungen des retikulären Gewebes kommt, kann von uns anhand der Versuche nicht und wurde auch von anderen Forschern nur selten beantwortet. Zuweit würde es führen, unsere Versuchsergebnisse, d.h. die Abnahme der kleinen Retikulumzellen unter Hydrocortisoneinfluß, mit denen von FLEISCHER (18) zu vergleichen, der bei Tierversuchen eine Abnahme der Retikulumzellen beobachten konnte. Auch BOLL und WEISSENFELS (9) stellten unter gleichen Versuchsbedingungen eine signifikante Abnahme des prozentualen Anteils der retikulären Zellen fest. Eine signifikante Vermehrung der Retikulumzellen durch Fluocortulon fand dagegen KOCH (33) nach 48-stündiger Kultivierung seiner Knochenmarkkulturen.

Dem Hydrocortison als dem ohnehin physiologischstem Corticosteroid können wir also im therapeutischen Bereich eine die Erythropoese wie die Granulopoese stimulierende Wirkung zuschreiben.

Z U S A M M E N F A S S U N G

In 6 Versuchen werden die Veränderungen des menschlichen Knochenmarkes in vitro bei Einwirkung von 1 μ g/ml Hydrocortison über 72 Stunden im Hinblick auf die Zellproliferation untersucht.

Es konnte für die Erythropoese in 5 von 6 Versuchen eine wenn auch nicht immer signifikante Proliferationsförderung festgestellt werden. Ebenfalls in 5 von 6 Versuchen wurde die Zellproliferation der Granulopoese signifikant gefördert.

Über die Wirkung des Hydrocortisons auf das retikuläre Gewebe können wir keine eindeutige Aussage machen.

Die Lymphozyten haben signifikant abgenommen.

Damit ist auch für Hydrocortison bewiesen, daß sich seine Wirkung auf die Myelopoese in vitro von der des Prednisolonacetats und der des Triamcinolons erheblich unterscheidet.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ADDISON, Th.: On the disease of supraadrenal capsules. London med. Gaz. 43 (1855)
2. ARPELS, C.; BABCOCK, V.; SOUTHAM, Ch.: Effect of Steroids on Human Cell Cultures; Sustaining Effect of Hydrocortison. Proc.Soc.Exp. Biol.Med. 115:102, 1964
3. BAKER, B.L., INGLE, D.J.: Groth inhibition in bone and bone marrow following treatment with ACTH. Endocrinology 43 (1948) 422
4. BASERGA, A.; MORSIANI, M.: Regeneration des lymphatischen Gewebes nach Prednisolon. Schweiz.med.Wschr. 91:1190 (1961)
5. BELITZ, H.-J.: Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie. Sonderdruck aus "Der Mathematikunterricht" Heft 3/60 Klett (Stuttgart)
6. BERMAN, J.; GORDON, A.S.: Effects of cortisone upon respiration and cellular elements of bone marrow. Amer.J.physiol. 173 (1953) 184
7. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966

8. BOLL, I.; MERSCH, G.; SCHOEN, S.; GÖTTKE, U.;
BOXHEIMER, D.; LUCKE, G.: Hormoneinwirkung auf die
Proliferationskinetik humaner Knochen-
markkulturen. Klin.Wschr. 46:608 (1968)
9. BOLL, I.; WEISSENFELS, I.: Einwirkung von Cortico-
steroiden (Prednisolonacetat und
Triamcinolon) auf menschliches Knochen-
mark in vitro. Klin.Wschr. 51,907-14
(1973)
10. CAVALLI-SFORZA, L.: Biometrie (Fischer, Stuttgart 1969)
11. CECCHI, E.; CONSTABILE, E. und Mitarb.: Étude ex-
périmentale de l'action hématopoïétique
des corticostéroïdes antirhéumatismaux.
Schweiz, med.Wschr.86 (1956) 1287
12. DARZYNKIEWICZ, Z.; PIENKOWSKI, M.: Effect of
Prednisolone on RNA-synthesis in
human lymphocytes stimulated by
phytohaemagglutinin. Exp.cell.Res.
54,289 (1969)
13. DONTONWILL, W.; HILSCHER, W.; FRANK, H.: Tierexperi-
mentelle Untersuchungen zur Wirkung
hoher Dosen Cortison u. ACTH.
Klin.Wschr. 33 (1955) 725
14. ELVES, M.W.; GOUGH, J.; ISRAELS, M.C.G.: The place of
the lymphocyte in the reticulo-
endothelial system: A study of the
in vitro effect of Prednisolone on
lymphocytes. Acta haemat. 32:100 (1964)

15. FARNES, P.; BARKER, B.E.: Effect of Prednisolone on
human bone marrow cultures.
Metabolism 14:1 (1965)
16. FERRARI, V. u. Mitarb.: Minerva med.46 (1955) 51
17. FINCH, St.C.; CROCKETT, Ch.L.; ROSS, J.F.; BAYLES, Th.B.:
Haematologic changes with ACTH and cortisone
therapy of rheumatoid arthritis.
Blood 6 (1951) 1034
18. FLEISCHER, J.: Die Wirkung längerer Gaben von Prednisolon
und Endoxan auf das Knochenmark des
Kaninchens. Folia haemat., N.F., 7:323
(1963)
19. FRANKFURT, O.S.: Effect of Hydrocortisone, Arenaline and
Actinomycin D on Transition of cells to
the DNA Synthesis Phase.
Experimental Cell Research 52,220-232
(1968)
20. GABOUREL, L.; ARONOW, I.: zitiert nach U. HECKMANN: Zur
Prednisolonwirkung auf Malignomzellen in
der Gewebekultur. Med.Welt, N.F., 18:483
(1967)
21. GILLETTE, R.; BUCHSBAUM, R.: Some effect of Desoxycorti-
costerone Glycoside on Chick Fibroblasts
in vitro. Proc. Soc.Exp.Biol. and Med. 83,30
(1953)
22. GLÖCKLER, C.: Die Einwirkung von 0,25 µg/ml Corticosteron
bzw. Hydrocortison auf menschliches Knochen-
mark in vitro. Diss. i.Druck.

23. GROSS, R.; SIECKE, U.: Über die Beziehungen zwischen
Blut- und Knochenmarkswirkung des ACTH,
bes. bei den Eosinophilen. Klin.Wschr.30
(1952) 456.
24. GROSSFELD, M.; RAGAN, C.: Action of Hydrocortison on
cells in tissue Culture.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 86:63-68 (1954)
25. HANSEN, H.G.; SCHÖN, H.: Tierexperimentelle Untersuchun-
gen über den Einfluß des Hypophysen-
Adrenalsystems auf die Blutzellsysteme.
Acta. haemat. 10 (1953) 77
26. HECKMANN, U.: Zur Prednisolonwirkung auf Malignomzellen
in der Gewebekultur. Med.Welt, N.F.,
18:483 (1967)
27. HEILMANN, D.H.: Combined action of adrenal cortical
hormones and endotoxin on cells of the RES.
Int.Arch.Allergy 35:591 (1969)
28. HENCH, P.S.; KENDALL, E.C.; SLOCUMB, C.H.; POLLY, H.F.:
The effect of a hormone of the adrenal
cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosteron
compound E) and pituitary adrenocortico-
tropic hormone on rheumatoid artheritis.
Proc.Staff.Meet.Mayo Clin. 24:181 (1949)
29. HOLDEN, M.; ADAMS, L.B.: Inhibitory Effects of Cortisone
Acetat and Hydrocortisone on Growth of
Fibroblasts. Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 95
364-68, 1957

30. HUDSON, G.; HERDAN, G.; YOFFREY, J.M.: Effect of repeated injections of ACTH upon the bone marrow.
Brit.Med.Journ. 1 (1952) 999.
31. JAFFE, J.J.; FISCHER, G.A.; WELCH, A.D.: Biochem. Pharmacol. 12:1081 (1963)
32. KAISER, H.: 25 Jahre Cortison. Was bleibt?
Scripta medica Merck, 6
33. KOCH, M.: Die Einwirkung von 0,25 µg/ml Fluocortulon auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. i.Druck
34. KUMMER, D.; OCHS, H.-D.: Cytostatische Wirkung von Cortisol und verwandten Steroiden an Krebszellen.
Z.Physiol.Chem. 349:9 (1968)
35. MACIERA, C.A.: Action of cortisone on human fibroblasts in vitro. Experientia 22:390 (1961)
36. MEISSNER, J.; HANSEN, H.G.; WULF, U.: Zum Wirkungsmechanismus des Cortisons auf den Nukleinsäurestoffwechsel. 2. Jahrestagg. Ges. f. Nukl.Med., Heidelberg 1964, 1377
37. MORRISON, J.H.; TOEPFER, J.R.: Cellular Changes in the Bone Marrow Following Chronic Treatment of Rats with Cortisol. Acta haemat. 38: 250-254 (1967)
38. MÜLLER, D.: Die Wirkung von Prednisolon auf das menschliche Knochenmark und auf Leukaemiezellen. 10. Europ.Haemat.Kongr., Straßburg 1965

39. NOWELL, P.C.: Inhibition of human leukocyte mitosis
by Prednisolone in Vitro. *Canar.Res.*
21:1518 (1961)
40. PETROV, R.V.; MANYO, V.M.; KHAITOV, R.M.; SESLAVINA, L.S.:
An experimental system for the simultaneous
estimation of mitostatic and lymphotoxic
effects of Immunosuppressants and cytostatics.
J.exp.Med. 133:640 (1941)
41. QUITTNER, H.; WALD, N.; SUSSMANN, L.; AUTOPOL, W.: The
effect of massive doses of cortisone on the
periplural blood and bone marrow of the mouse.
Blood 6:513 (1951)
42. RAPPAY, G.; FAZEKAS, G.; GYLVAI, A.: Effect of hydro-
cortisone on growth in vitro of fibroblast-
like (FL) cells derived from rat organs.
Acta med. Acta Sci. Hung. 25:451 (1968)
43. REISNER, E.H.jr.; ODOM, R.: Effects of different hormones
on blood cells differentiation in bone marrow
in vitro. *Excerpta med.* 16:812 (1962)
44. ROBBINS, G.P.; COOPER, J.A.D.; ALT, H.L.: Effect of
corticotropin on cellularity and mitosis
in the rat bone marrow, spleen and thymus.
Endocrinology 56 (1955) 161
45. SCHELLACK, A.: Die Einwirkung von Prednisolonsulfat auf
menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. i.Druck
46. SCHMID-BIRCHER, M.: Histologische Organveränderungen beim
Kaninchen durch hohe Cortisondosen.
Beitr. path.Anatomie 114 (1954) 136.

47. SEIFERT, R.; HILZ, H.: zitiert nach G. RAPPAY: Effect
of Hydrocortisone on growth in vitro of
fibroblast-like (FL) cells derived from
rat organs. Acta med. Acta Sci.Hung. 25:
451 (1968)
48. SWINGLE, W.W.: Amer. Naturalist 41, 132 (1927)
49. SWINGLE, W.W.; PFIFFNER, J.J.: Amer.J.Physiol. 96,164
(1931), 96, 180 (1931), 96, 144 (1931)
50. TAIFOUR, A.-H.: Autoradiographische Untersuchungen an
Glucocorticoid-vorbehandelten Mäusefibro-
blastenkulturen. Diss. (Heidelberg 1968)
51. TAUSK, M.: Pharmakologie der Hormone
(Thieme, Stuttgart 1970)
52. THORMEY, D.C.; FUDENBERG, H.H.; KAMIN, R.M.: Effect of
Prednisolone on synthesis of DNA and RNA
by human lymphocytes in vitro.
Nature 213 : 281 (1967)
53. TROWELL, O.A.: The action of cortison on lymphocytes in
vitro. J. Physiol., Lond.119;2 274 (1953)
54. VAHLQUIST, B.: Corticosteroide und Erythropoese.
Monatsschrift f. Kinderheilkunde 113,6:415
55. WALLON, D.; BROWAEYS, J.: Aplasie éosinophile de la moelle
après Corticothérapie massiv chez le rat.
Sang 30 (1959) 587
56. WELLINGTON, J.S.; MOON, H.D.: Effect of hydrocortisone
on human cells in Tissue culture.
Proc.Soc. exp. Biol. (N.Y.) 107,556 1961

57. WILDE, G.: Die Einwirkung von Dexamethasonsulfat
auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1974)
58. YOFFEY, J.M.; ANCILL, R.J.; u. Mitarb.: A quantitative
study of the effect of compound E,
compound F, and compound A upon the bone
marrow of the guinea-pig.
J. Anatomy 88 (1954) 115

L E B E N S L A U F

Am 4.11.1948 wurde ich, Susanne Wichmann, als erstes Kind des Ingenieurs Hans Wichmann und seiner Ehefrau Hannelore, geb. Luckfiel, in Berlin geboren.

1955 wurde ich eingeschult und besuchte von 1961 bis 1968 das Rheingaugymnasium in Berlin-Friedenau. Nach bestandenen Abitur begann ich noch im gleichen Jahr mit dem Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin, das ich am 27.6.1973 mit dem Staatsexamen abschloß.

Anschließend ließ ich mich für das Studienfach Politische Wissenschaften einschreiben.

Seit September 1973 bin ich als Assistentin in der freien zahnärztlichen Praxis tätig.

